

①	Sendungen des Deutschen Patentamts sind schicken an:  Herrn Patentanwalt Dr. Hans D. Boeters Bereiteranger 15  81541 München	<b>Antrag auf Erteilung eines Patents</b>  Aktenzeichen (wird vom Deutschen Patentamt vergeben)  <b>195 42 986.9</b>	
②	Zeichen des Anmelders/Vertreters (max. 20 Stellen) 7865-GBF	Telefon des Anmelders/Vertreters 089/65 00 86	Datum 17. Nov. 1995
③	Der Empfänger in Feld ① ist der <input type="checkbox"/> Anmelder <input type="checkbox"/> Zustellungsbevollmächtigte	ggf. Nr. der Allgemeinen Vollmacht <input checked="" type="checkbox"/> Vertreter	
④	<b>Anmelder</b>  Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH (GBF) Mascheroder Weg 1 38124 Braunschweig	<b>Vertreter</b>  Dr. Hans D. Boeters Dipl.-Ing. Robert Bauer Dr. Enno Meyer Bereiteranger 15 81541 München	
⑤	Anmeldercode-Nr.	Vertretercode-Nr.	Zustelladressecode-Nr.
⑥	<b>Bezeichnung der Erfindung (bei Überlänge auf gesondertem Blatt - 2fach)</b>  Epothilon-Derivate und deren Verwendung		
⑦	<b>Sonstige Anträge</b> <input type="checkbox"/> Die Anmeldung ist <b>Zusatz</b> zur Patentanmeldung (zum Patent) → <input type="checkbox"/> <b>Prüfungsantrag</b> - Prüfung der Anmeldung (§ 44 Patentgesetz) <input type="checkbox"/> <b>Recherchenantrag</b> - Ermittlung der öffentlichen Druckschriften ohne Prüfung (§ 43 Patentgesetz) <input type="checkbox"/> <b>Lieferung von Ablichtungen</b> der ermittelten Druckschriften im <input type="checkbox"/> Prüfungsverfahren <input type="checkbox"/> Recherchenverfahren <input type="checkbox"/> <b>Aussetzung des Erteilungsbeschlusses</b> auf _____ Monate (§ 49 Abs. 2 Patentgesetz) (Max. 15 Mon. ab Anmelde- oder Prioritätstag)		Aktenzeichen der Hauptanmeldung (des Hauptpatents)
⑧	<b>Erklärungen</b> <input type="checkbox"/> <b>Teilung/Ausscheidung</b> aus der Patentanmeldung → <input type="checkbox"/> an <b>Lizenzvergabe</b> interessiert (unverbindlich) <input type="checkbox"/> mit <b>vorzeitiger Offenlegung</b> und damit freier Akteneinsicht einverstanden (§ 31 Abs. 2 Nr. 1 Patentgesetz)		Aktenzeichen der Stammanmeldung
⑨	<input type="checkbox"/> <b>Inländische Priorität</b> (Datum, Aktenzeichen der Voranmeldung) <input type="checkbox"/> <b>Ausländische Priorität</b> (Datum, Land, Aktenz. der Voranmeldung) } bei Überlänge auf gesondertem Blatt - 2fach		
⑩	<b>Gebühreuzahlung in Höhe von 100,00 DM</b> <input type="checkbox"/> Scheck ist beigefügt <input checked="" type="checkbox"/> Überweisung (nach Erhalt der Empfangsbescheinigung) <input type="checkbox"/> Gebührenmarken sind beigefügt (bitte nicht auf d. Rückseite kleben, ggf. auf gesond. Blatt)		Abbuchung von meinem/unserem Abbuchungskonto b. d. Dresdner Bank AG, München Nr.:

⑪ Anlagen

1. \_\_\_\_\_ Vertretervollmacht
2. \_\_\_\_\_ Erfinderbenennung
3. \_\_\_\_\_ Zusammenfassung (ggf. mit Zeichnung Fig. \_\_\_\_\_)
4. \_\_\_\_\_ Seite(n) Beschreibung
5. \_\_\_\_\_ ggf. Bezugszeichenliste
6. \_\_\_\_\_ Seite(n) Patentansprüche
7. \_\_\_\_\_ Anzahl Patentansprüche
8. \_\_\_\_\_ Blatt Zeichnungen
9. \_\_\_\_\_ Abschrift(en) d. Voranmeldung

☐ Telefax vorab am \_\_\_\_\_



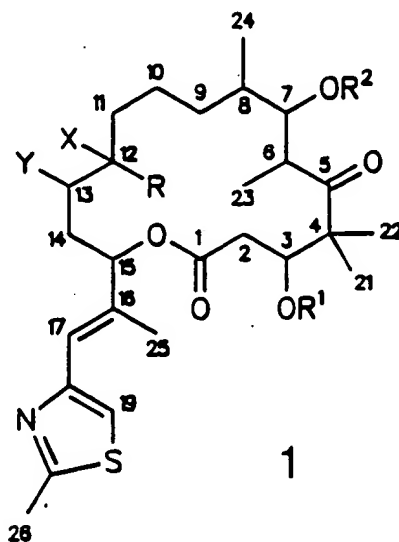
(Dr. Meyer)

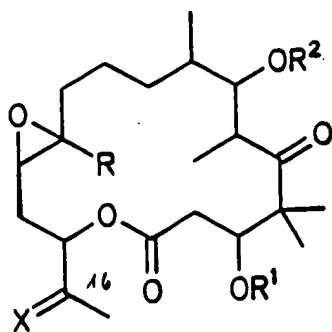
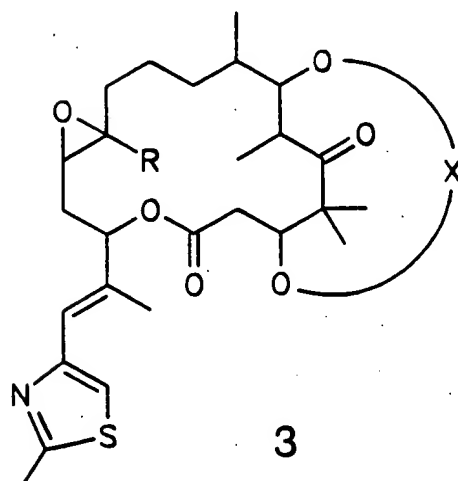
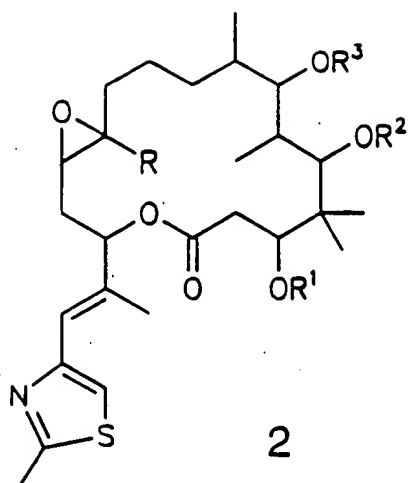
17. November 1995/pl

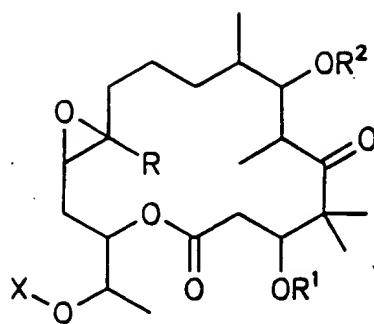
Unser Zeichen: 7865

### Epothilonderivate und deren Verwendung

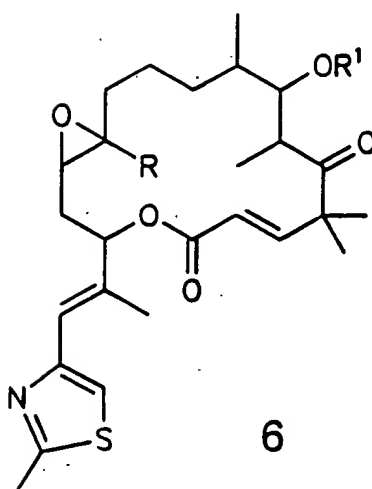
Die vorliegende Erfindung betrifft allgemein Epothilonderivate und deren Verwendung zur Herstellung von Arzneimitteln. Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung die Herstellung der Epothilonderivate der nachfolgend dargestellten allgemeinen Formeln 1 bis 7 sowie deren Verwendung zur Herstellung von therapeutischen Mitteln und Mitteln für den Pflanzenschutz.



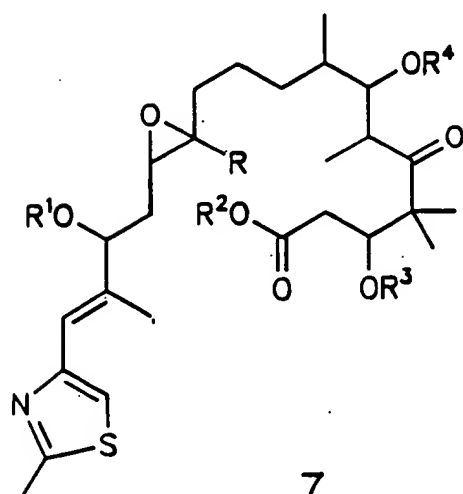




5



6



7

In den vorstehenden Formeln 1 bis 7 bedeuten:

$R = H, C_1\text{- bis } C_4\text{-Alkyl};$

$R^1, R^2, R^3, R^4, R^5 = H, C_1\text{- bis } C_6\text{-Alkyl},$

$C_1\text{- bis } C_6\text{-Acyl-Benzoyl},$

$C_1\text{- bis } C_4\text{-Trialkylsilyl},$

Benzyl,

Phenyl,

$C_1\text{- bis } C_6\text{-Alkoxy-},$

$C_6\text{-Alkyl-}, \text{Hydroxy- und Halogen-}$

substituiertes Benzyl bzw. Phenyl;

wobei auch zwei der Reste  $R^1$  bis  $R^5$  zu der Gruppierung  $-(CH_2)_n-$  mit  $n = 1$  bis 6 zusammentreten können und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um gradkettige oder verzweigte Reste handelt.

In der Formel 1 sind X und Y entweder gleich oder verschieden und stehen jeweils für Halogen, OH, O-( $C_1\text{- bis } C_6$ )-Acyl, O-( $C_1\text{- bis } C_6$ )-Alkyl, O-Benzoyl.

In der Formel 3 steht X allgemein für  $-C(O)-$ ,  $-C(S)-$ ,  $-S(O)-$ ,  $-CR^1R^2-$ , wobei  $R^1$  und  $R^2$  die Bedeutung haben wie oben angegeben, und  $-SiR_2$ , wobei R die Bedeutung hat wie oben angegeben.

In der Formel 4 bedeutet X Sauerstoff,  $NOR^3$ ,  $N-NR^4R^5$ , und  $N-NHCONR^4R^5$ , wobei die Reste  $R^3$  bis  $R^5$  die oben angegebene Bedeutung haben.

In der Formel 5 bedeutet X Wasserstoff,  $C_1\text{- bis } C_{18}\text{-Alkyl}$ ,  $C_1\text{- bis } C_{18}\text{-Acyl}$ , Benzyl, Benzoyl und Cinnamoyl.

Verbindungen gemäß der allgemeinen Formel 1 sind ausgehend von Epothilon A und B sowie von deren 3-O- und/oder 7-O-geschützten Derivaten durch Öffnung des 12,13-Epoxids zugänglich. Werden dazu Hydrog n wass rstoffssäuren in einem bevorzugt nicht wässrigen Lösungsmitt l einges tzt, wob i man

die Halogenhydrin  $X = \text{Hal}$ ,  $Y = \text{OH}$  und  $Y = \text{OH}$ ,  $Y = \text{Hal}$  erhält. Protonensäuren wie z.B. Toluolsulfonsäure und Trifluoressigsäure führen in Gegenwart von Wasser zu 12,13-Diolen, die anschließend nach Standardverfahren acyliert (z.B. mit Carbonsäureanhydriden und Pyridin oder Triethylamin/DMAP) oder alkyliert (Alkylhalogenide und Silberoxid) werden. Die 3- und 7-Hydroxygruppen können dazu vorübergehend als Formiat (Abspaltung mit  $\text{NH}_3/\text{MeOH}$ ) oder p-Methoxybenzylether (Abspaltung mit DDQ) geschützt werden.

Verbindungen gemäß der allgemeinen Formel 2 sind aus Epothilon A und B sowie deren 3-O- und/oder 7-O-geschützten Derivaten durch Reduktion, z.B. mit  $\text{NaBH}_4$  in Methanol erhältlich. Sind dabei 3-OH und/oder 7-OH reversibel geschützt, so können nach Acylierung oder Alkylierung und Entfernen der Schutzgruppen 5-O-monosubstituierte, 3,5- oder 5,7-O-disubstituierte Derivate der allgemeinen Formel 2 erhalten werden.

Umsetzungen von Epothilon A und B mit bifunktionellen elektrophilen Reagenzien, wie (Thio)Phosgen, (Thio)Carbonyldimidazol, Thionylchlorid oder Dialkylsilyldichloriden bzw. -bistriflaten ergeben Verbindungen der allgemeinen Formel 3. Als Hilfsbasen dienen dabei Pyridin, Trialkylamine, ggf. zusammen mit DMAP bzw. 2,6-Lutidin in einem nichtprotischen Lösungsmittel. Die 3,7-Acetale der allgemeinen Formel 3 entstehen durch Umacetalisierung z.B. von Dimethylacetalen in Gegenwart eines sauren Katalysators.

Verbindungen gemäß der allgemeinen Formel 4 werden aus Epothilon A und B oder ihren 3-O- und/oder 7-O-geschützten Derivaten durch Ozonolyse und reduktive Aufarbeitung, z.B. mit Dimethylsulfid, erhalten. Die C-16-Ketone können anschließend nach dem Fachmann geläufigen Standardverfahren in Oxime, Hydrazone oder Semicarbazone umgewandelt werden. Sie werden weiterhin durch Wittig-, Wittig-Horner-, Julia- oder Petersen-Olefinierung in C-16/C-17-Olefine überführt.

Durch Reduktion der C-16-Ketogruppe, z.B. mit einem Aluminium- oder Borhydrid, sind die 16-Hydroxyderivate gemäß der allgemeinen Formel 5 erhältlich. Diese können, wenn 3-OH und 7-OH mit entsprechenden Schutzgruppen versehen sind, selektiv acyliert oder alkyliert werden. Die Freisetzung der 3-OH- und 7-OH-Gruppen erfolgt z.B. bei O-Formyl durch  $\text{NH}_3/\text{MeOH}$ , bei O-p-Methoxybenzyl durch DDQ.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel 6 werden aus Derivaten von Epothilon A und B erhalten, bei denen die 7-OH-Gruppe durch Acyl- oder Ethergruppen geschützt ist, in dem die 3-OH-Gruppe z.B. formyliert, mesyliert oder tosyliert und anschließend durch Behandlung mit einer Base z.B. DBU eliminiert wird. Die 7-OH-Gruppe kann wie oben beschrieben freigesetzt werden.

Verbindungen der allgemeinen Formel 7 werden aus Epothilon A und B oder deren 3-OH- und 7-OH-geschützten Derivaten durch basische Hydrolyse erhalten, z.B. mit NaOH in MeOH. Die Carboxylgruppe kann mit Diazoalkanen nach Schutz der 19-OH-Gruppe durch Alkylierung in Ester umgewandelt werden.

Die Erfindung betrifft ferner Mittel für den Pflanzenschutz in Landwirtschaft, Forstwirtschaft und/oder Gartenbau, bestehend aus einer oder mehreren der vorstehend aufgeführten Epothilonderivate bzw. bestehend aus einem oder mehreren der vorstehend aufgeführten Epothilonderivate neben einem oder mehreren üblichen Träger(n) und/oder Verdünnungsmittel(n).

Schließlich betrifft die Erfindung therapeutische Mittel, bestehend aus einer oder mehreren der vorstehend aufgeführten Verbindungen oder einer oder mehreren der vorstehend aufgeführten Verbindungen neben einem oder mehreren üblichen Träger(n) und/oder Verdünnungsmittel(n). Diese Mittel können insbesondere cytotoxische Aktivitäten entwickeln und/oder Immunsuppression bewirken, so daß sie besonders bevorzugt als Cytostatika verwendbar sind.

Die Erfindung wird im folgenden durch die Beschreibung von einigen ausgewählten Ausführungsbeispielen näher erläutert und beschrieben.

### Beispiele

#### Verbindung 1a:

20 mg (0.041 mmol) Epothilon A werden in 1 ml Aceton gelöst, mit 50 µl (0.649 mmol) Trifluoressigsäure versetzt und über Nacht bei 50 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 85 : 15). Ausbeute: 4 mg (19 %) Isomer I  
4 mg (19 %) Isomer II

#### Isomer I

R<sub>f</sub> (Dichlormethan/Aceton, 85 : 15): 0.46

IR (Film):  $\nu$  = 3440 (m, b, Sch), 2946 (s, Sch), 1734 (vs), 1686 (m), 1456 (m), 1375 (w), 1256 (s, Sch), 1190 (w, b, Sch), 1071 (m, Sch), 884 (w), 735 (w) cm<sup>-1</sup>.

MS (20/70 eV): m/e (%) = 493 (43 [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>), 394 (47), 306 (32), 206 (30), 181 (40), 166 (72), 139 (100), 113 (19), 71 (19), 57 (24), 43 (24).

Hochauflösung: C<sub>26</sub>H<sub>39</sub>O<sub>6</sub>NS ber.: 493.2498 für [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>  
gef.: 493.2478



**Isomer II**

R<sub>f</sub> (Dichlormethan/Aceton, 85 : 15): 0.22

IR (Film):  $\nu$  = 3484 (s, b, Sch), 2942 (vs, Sch), 1727 (vs), 1570 (w), 1456 (m), 1380 (m), 1265 (s), 1190 (w), 1069 (m), 975 (w),  $\text{cm}^{-1}$ .

MS (20/70 eV): m/e (%) = 493 (21 [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>), 394 (12), 306 (46), 206 (37), 181 (63), 166 (99), 139 (100), 113 (21), 71 (23), 57 (33), 43 (28).

Hochauflösung: C<sub>26</sub>H<sub>39</sub>O<sub>6</sub>NS ber.: 493.2498 für [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>  
gef.: 493.2475

**Verbindung 1b:**

55 mg (0.111 mmol) Epothilon A werden in 0.5 ml Tetrahydrofuran gelöst, mit 0.5 ml 1 N Salzsäure versetzt und 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird mit 1 N Phos-phatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol, 90 : 10). Ausbeute: 19 mg (32 %)

R<sub>f</sub> (Dichlormethan/Methanol, 90 : 10): 0.46

IR (Film):  $\nu$  = 3441 (s, br, Sch), 2948 (s, Sch), 1725 (vs, Sch), 1462 (m), 1381 (w), 1265 (m), 1154 (w), 972 (m, br, Sch)  $\text{cm}^{-1}$ .

UV (Methanol):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 210 (4.29), 248 (4.11) nm.

MS (20/70 eV): m/e (%) = 529 (13 [M<sup>+</sup>]), 494 (10), 342 (38), 306 (23), 194 (32), 164 (100), 140 (31), 113 (15), 57 (16).

Hochauflösung: C<sub>26</sub>H<sub>40</sub>O<sub>6</sub>ClNS ber.: 529.2265 für [M<sup>+</sup>],

gef.: 529.2280

**Verbindung 1c:**

25 mg (0.047 mmol) 12-Chlor-13-hydroxy-epothilon A (1b) werden in 1 ml Dichlormethan gelöst, mit 29 mg (0.235 mmol) Dimethylaminopyridin, 151 µl (1.081 mmol) Triethylamin und 20 µl (0.517 mmol) 98 %-iger Ameisensäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wird mit Eis/Natriumchlorid abgekühlt. Nach Erreichen von - 15 °C werden dem Reaktionsgemisch 40 µl (0.423 mmol) Essigsäureanhydrid zugegeben und 70 Minuten bei - 15 °C gerührt. Nach dem ein Dünnschichtchromatogramm keinen vollständigen Umsatz anzeigt, werden dem Reaktionsgemisch weitere 6 mg (0.047 mmol) Di-methylaminopyridin, 7 µl (0.047 mmol) Triethylamin, 2 µl 98 %-ige Ameisensäure (0.047 mmol) und 4 µl (0.047 mmol) Essigsäureanhydrid zugesetzt und 60 Minuten gerührt.

Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt, mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit.

Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 90 : 10).

Ausbeute 1c: 5 mg (18 %)

**Verbindung 1c:**

R<sub>f</sub> (Dichlormethan/Aceton, 90 : 10): 0.67

IR (Film):  $\nu$  = 3497 (w, b, Sch), 2940 (s, b, Sch), 1725 (vs), 1468 (m, b, Sch), 1379 (m), 1265 (s), 1253 (s), 1175 (vs), 972 (m, b, Sch), 737 (s) cm<sup>-1</sup>.

MS (20/70 eV): m/e (%) = 613 (9 [M<sup>+</sup>]), 567 (43), 472 (63), 382 (23), 352 (21), 164 (100),

151 (33), 96 (31), 69 (17), 44  
(26).

Hochauflösung:  $C_{29}H_{40}O_9NSCl$  ber.: 613.2112 für  $[M^+]$   
gef.: 613.2131

**Verbindung 1d:**

10 mg (0.020 mmol) Epothilon B werden in 0.5 ml Tetrahydrofuran gelöst, mit 0.5 ml 1 N Salzsäure versetzt und 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schicht-chromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 85 : 15).

Ausbeute: 1 mg (9 %)

R<sub>f</sub> (Dichlormethan/Aceton, 85 : 15): 0.38

MS (20/70 eV): m/e (%) = 543 (3  $[M^+]$ ), 507 (14), 320 (19),  
234 (9), 194 (17), 182 (23), 164  
(100), 140 (22), 113 (14), 71  
(13).

Hochauflösung:  $C_{27}H_{42}O_8NSCl$  ber.: 543.2421 für  $[M^+]$   
gef.: 543.2405

**Verbindung 2a:**

100 mg (0.203 mmol) Epothilon A werden in 4 ml Tetrahydrofuran/1 M Phosphatpuffer pH 7 (1 : 1) gelöst und solange mit Natrium-borhydrid (150 mg = 3.965 mmol) versetzt bis das Edukt laut Dünn-schichtchromatogramm vollständig abreagiert ist. Anschließend wird mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 verdünnt und die

wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit.

Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt durch Kieselchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 95 : 5 - grad - nach Dichlormethan/Aceton, 85 : 15).

Ausbeute: (20 %)

R<sub>f</sub> (Dichlormethan/Aceton, 75 : 25): 0.27

IR (Film):  $\nu$  = 3413 (s, b, Sch), 2965 (vs, Sch), 1734 (vs), 1458 (m, b, Sch), 1383 (m, Sch), 1264 (s, b, Sch), 1184 (m, b, Sch), 1059 (s, Sch), 966 (s), 885 (w), 737 (m) cm<sup>-1</sup>.

MS (20/70 eV): m/e (%) = 495 (6 [M<sup>+</sup>]), 477 (8), 452 (12), 394 (9), 364 (16), 306 (49), 194 (19), 178 (35), 164 (100), 140 (40), 83 (21), 55 (27).

Hochauflösung: C<sub>26</sub>H<sub>41</sub>O<sub>6</sub>NS ber.: 495.2655 für [M<sup>+</sup>]  
gef.: 495.2623

**Verbindung 3a-d (a-d sind Stereoisomere):**

100 mg (0.203 mmol) Epothilon werden in 3 ml Pyridin gelöst, mit 50 µl (0.686 mmol) Thionylchlorid versetzt und 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes und Trennung der vier Stereoisomeren 3a-d erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Toluol/Methanol, 90 : 10).

**Verbindung 3a:**

Ausbeute: 4 mg (12 %)

R<sub>f</sub> (Toluol/Methanol, 90 : 10): 0.50

IR (Film):  $\bar{\nu}$  = 2961 (m, b, Sch), 1742 (vs), 1701 (vs),  
1465 (m, Sch), 1389 (m, Sch), 1238 (s,  
Sch), 1210 (vs, Sch), 1011 (s, Sch), 957  
(s, b, Sch), 808 (m, Sch), 768 (s, Sch) cm<sup>-1</sup>.

UV (Methanol):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 210 (4.50), 248 (4.35) nm.

MS (20/70 eV): m/e (%) = 539 (40 [M<sup>+</sup>]), 457 (22), 362 (16),  
316 (27), 222 (30), 178 (30), 164  
(100), 151 (43), 96 (38), 69 (29),  
55 (28), 43 (20).

Hochauflösung: C<sub>26</sub>H<sub>37</sub>O<sub>7</sub>NS<sub>2</sub> ber.: 539.2011 für [M<sup>+</sup>]

**Verbindung 3b:**

Ausbeute: 14 mg (13 %)

R<sub>f</sub> (Toluol/Methanol, 90 : 10): 0.44

IR (Film):  $\bar{\nu}$  = 2963 (s, br, Sch), 1740 (vs), 1703 (s),  
1510 (w), 1464 (m, br, Sch), 1389 (m, Sch),  
1240 (s, br, Sch), 1142 (m), 1076 (w), 1037  
(w), 1003 (m), 945 (s, br, Sch), 806 (m,  
Sch), 775 (s), 737 (m) cm<sup>-1</sup>.

UV (Methanol):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 211 (4.16), 250 (4.08) nm.

MS (20/70 eV): m/e (%) = 539 (27 [M<sup>+</sup>]), 475 (17), 322 (41),  
306 (67), 222 (16), 206 (17), 194  
(19), 178 (32), 164 (100), 151  
(33), 125 (18), 113 (15), 96  
(39), 81 (23), 64 (58), 57 (42),  
41 (19).

Hochauflösung: C<sub>26</sub>H<sub>37</sub>O<sub>7</sub>NS<sub>2</sub> ber.: 539.2011 für [M<sup>+</sup>]  
gef.: 539.1998

**Verbindung 3c:**

Ausbeute: 4 mg (4 %)

R<sub>f</sub> (Toluol/Methanol, 90 : 10): 0.38

MS (20/70 eV): m/e (%) = 539 (51 [M<sup>+</sup>]), 322 (22), 306 (53),  
222 (36), 178 (31), 164 (100), 151 (41), 96  
(25), 81 (20), 69 (26), 55 (25), 41 (25).

Hochauflösung: C<sub>26</sub>H<sub>37</sub>O<sub>7</sub>NS<sub>2</sub> ber.: 539.2011 für [M<sup>+</sup>]  
gef.: 539.2001

**Verbindung 3d:**

Ausbeute: 1 mg (1 %)

R<sub>f</sub> (Toluol/Methanol, 90 : 10): 0.33

MS (20/70 eV): m/e (%) = 539 (69 [M<sup>+</sup>]), 322 (35), 306 (51),  
222 (41), 178 (31), 164 (100), 151  
(46), 96 (31), 81 (26), 69 (34),  
55 (33), 41 (35).

Hochauflösung: C<sub>26</sub>H<sub>37</sub>O<sub>7</sub>NS<sub>2</sub> ber.: 539.2011 für [M<sup>+</sup>]  
gef.: 539.1997

**Verbindung 4a:**

10 mg (0.020 mmol) Epothilon A werden in 2 ml Dichlormethan gelöst, auf -70 °C abgekühlt und anschließend 5 Minuten mit Ozon bis zur schwachen Blaufärbung behandelt. Das resultierende Reaktionsgemisch wird anschließend mit 0.5 ml Dimethylsulfid versetzt und auf Raumtemperatur erwärmt. Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch vom Lösungsmittel befreit und schließlich durch präparative Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton/Methanol, 85 : 10 : 5) gereinigt.

Ausbeute: 5 mg (64 %)

R<sub>f</sub> (Dichlormethan/Aceton/Methanol, 85 : 10 : 5): 0.61

IR (Film):  $\nu$  = 3468 (s, br, Sch), 2947 (s, br, Sch),  
1734 (vs, Sch), 1458 (w), 1380 (w), 1267  
(w), 1157 (w), 1080 (w), 982 (w) cm<sup>-1</sup>.

UV (Methanol):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 202 (3.53) nm.

MS (20/70 eV): m/e (%) = 398 (2 [M<sup>+</sup>]), 380 (4), 267 (14),  
249 (17), 211 (20), 193 (26), 171  
(34), 139 (34), 111 (40), 96  
(100), 71 (48), 43 (50).

Hochauflösung:  $C_{21}H_{34}O_7$  ber.: 398.2305 für [M<sup>+</sup>]  
gef.: 398.2295

#### Verbindung 6a:

10 mg (0.018 mmol) 3,7-Di-O-formyl-epothilon A werden in 1 ml Di-chlormethan gelöst, mit 27  $\mu$ l (0.180 mmol) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) versetzt und 60 Minuten bei Raumtemperatur gerührt.

Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch mit 1 M Natrium-dihydrogenphosphat-Puffer pH 4.5 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit.

Nach Beseitigung des Lösungsmittel wird das resultierende Rohprodukt in 1 ml Methanol gelöst, mit 200  $\mu$ l einer ammoniakalischen Methanollösung (2 mmol NH<sub>3</sub>/ml Methanol) versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 4 mg (22 %)

R<sub>f</sub> (Dichlormethan/Aceton, 85 : 15): 0.46

IR (Film):  $\nu$  = 3445 (w, br, Sch), 2950 (vs, br, Sch),  
1717 (vs, Sch), 1644 (w), 1466 (m, Sch),  
1370 (m, Sch), 1267 (s, br, Sch), 1179  
(s, Sch), 984 (s, Sch), 860 (w), 733 (m)  
cm<sup>-1</sup>.

UV (Methanol):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 210 (4.16) nm.

MS (20/70 eV): m/e (%) = 475 (28 [M<sup>+</sup>]), 380 (21), 322 (37),  
318 (40), 304 (66), 178 (31), 166  
(100), 151 (29), 140 (19), 96  
(38), 81 (20), 57 (26).

Hochauflösung: C<sub>26</sub>H<sub>37</sub>O<sub>5</sub>NS ber.: 475.2392 für [M<sup>+</sup>]  
gef.: 475.2384

**Verbindung 6b:**

50 mg (0.091 mmol) 3,7-Di-O-formyl-epothilon A (werden in 1 ml  
Dichlorethan gelöst, mit 2 ml (0.013 mol) 1,8-Diazabicyclo  
[5.4.0]undec-7-en (DBU) versetzt und 12 Stunden bei 90 °C  
gerührt.

Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch mit 1 M Natrium-  
dihydrogenphosphat-Puffer pH 4.5 versetzt und die wäßrige  
Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten  
organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-  
Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom  
Lösungsmittel befreit.

Die Reinigung des aus zwei Verbindungen bestehenden  
Rohproduktes erfolgt mittels präparativer  
Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 90 :  
10).

Ausbeute: 7 mg (15 %)

**Substanzcode**

R<sub>f</sub> (Dichlormethan/Aceton, 90 : 10): 0.62

IR (Film):  $\nu$  = 2951 (m, br, Sch), 1723 (vs), 1644 (w,  
br, Sch), 1468 (w), 1377 (w), 1271 (m,  
br, Sch), 1179 (s), 987 (m, br, Sch),  
735 (w, br, Sch) cm<sup>-1</sup>.

UV (Methanol):  $\lambda_{\max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 210 (4.44) nm.

MS (20/70 eV): m/e (%) = 503 (68 [M<sup>+</sup>]), 408 (58), 390 (32),  
334 (25), 316 (34), 220 (21), 206  
(27), 194 (20), 181 (33), 164  
(100), 151 (34), 139 (28), 113  
(20), 96 (82), 81 (33), 67 (24),



55 (26), 43 (22).

Hochauflösung:  $C_{27}H_{37}O_6NS$  ber.: 503.2342 für  $[M^+]$   
gef.: 503.2303

#### Verbindung 6c:

5 mg (0.009 mmol) 3,7-Di-O-acetyl-epothilon werden in 1 ml Methanol gelöst, mit 150 µl einer ammoniakalischen Methanollösung (2 mmol  $NH_3$ /ml Methanol) versetzt und über Nacht bei 50 °C ge-rührt.

Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Toluol/Methanol, 90 : 10).

Ausbeute: 3 mg (67 %)

$R_f$  (Dichlormethan/Aceton, 90 : 10): 0.55

IR (Film):  $\nu$  = 2934 (s, b, Sch), 1719 (vs, b, Sch),  
1641 (m), 1460 (m, Sch), 1372 (s, Sch),  
1237 (vs, b, Sch), 1179 (s, Sch), 1020  
(s), 963 (s, Sch), 737 (vs)  $cm^{-1}$ .

UV (Methanol):  $\lambda_{max}$  (lg  $\epsilon$ ) = 210 (4.33) nm.

MS (20/70 eV): m/e (%) = 517 (57  $[M^+]$ ), 422 (58), 318  
(31), 194 (20), 181 (34), 166  
(100), 151 (31), 96 (96), 81  
(32), 69 (27), 55 (29), 43 (69).

Hochauflösung:  $C_{28}H_{39}O_6NS$  ber.: 517.2498 für  $[M^+]$   
gef.: 517.2492

#### Verbindung 7a:

20 mg (0.041 mmol) Epothilon werden in 0.5 ml Methanol gelöst, mit 0.5 ml 1 N Natronlauge versetzt und 5 Minuten bei Raum-

temperatur gerührt.

Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch mit 1 M. Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat ex-trahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol, 85 : 15).

Ausbeute: 11 mg (52 %)

R<sub>f</sub> (Dichlormethan/Methanol, 85 : 15): 0.92

IR (Film):  $\tilde{\nu}$  = 3438 (s, br, Sch), 2971 (vs, br, Sch), 1703 (vs), 1507 (m), 1460 (s, Sch), 1383 (m, Sch), 1254 (w), 1190 (w, br, Sch), 1011 (w, br, Sch), 866 (w, br), 729 (s)  $\text{cm}^{-1}$ .

MS (20/70 eV): m/e (%) = 423 (0.1 [M<sup>+</sup>]), 323 (4), 168 (89), 140 (100), 85 (31), 57 (67).

Hochauflösung: C<sub>23</sub>H<sub>37</sub>O<sub>4</sub>NS ber.: 423.2443 für [M<sup>+</sup>]  
gef.: 423.2410

#### Verbindung 7b:

5 mg (0.009 mmol) 7-O-Acetyl-epothilon werden in 1 ml Methanol gelöst, mit 200  $\mu\text{l}$  einer ammoniakalischen Methanollösung (2 mmol NH<sub>3</sub>/ml Methanol) versetzt und zwei Tage bei 50 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Toluol/Methanol, 90 : 10).

Ausbeute: 3 mg (59 %)

R<sub>f</sub> (Dichlormethan/Methanol, 90 : 10): 0.63

IR (Film):  $\tilde{\nu}$  = 3441 (m, b, Sch), 2946 (s, Sch), 1732 (vs), 1600 (w), 1451 (m), 1375 (m), 1246

(s, b, Sch), 1013 (m, b, Sch)  $\text{cm}^{-1}$ .

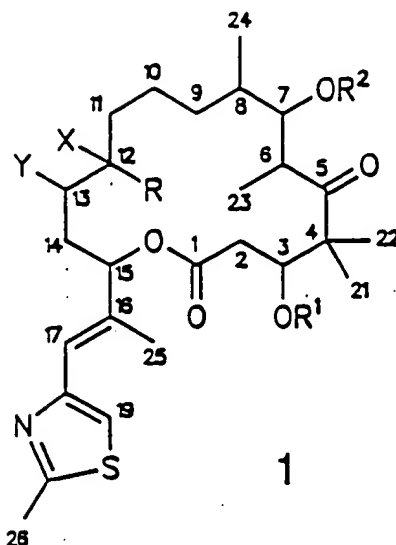
UV (Methanol):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\epsilon$ ) = 211 (3.75), 247 (3.59) nm.

MS (20/70 eV): m/e (%) = 567 (1 [ $\text{M}^+$ ]), 465 (4), 422 (7),  
388 (5), 194 (5), 182 (7), 168  
(65), 164 (17), 140 (100), 97  
(10), 71 (22), 43 (27).

Hochauflösung:  $\text{C}_{23}\text{H}_{49}\text{O}_8\text{NS}$  ber.: 567.2866 für [ $\text{M}^+$ ]  
gef.: 567.2849

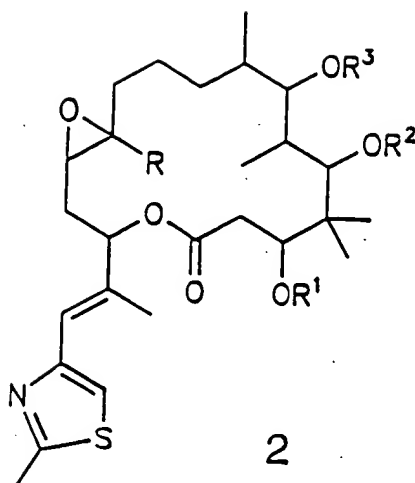
# Patentansprüche

## 1. Epothilonderivat der Formel 1



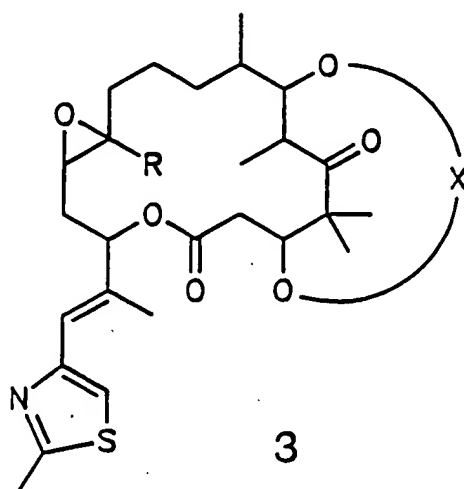
wobei R = H, C<sub>1</sub>- bis C<sub>4</sub>-Alkyl; R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> = H, C<sub>1</sub>- bis C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>6</sub>-Acyl-Benzoyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>4</sub>-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>6</sub>-Alkoxy-, C<sub>6</sub>-Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um gradkettige oder verzweigte Reste handelt, und X und Y entweder gleich oder verschieden sind und jeweils für Halogen, OH, O-(C<sub>1</sub>- bis C<sub>6</sub>)-Acyl, O-(C<sub>1</sub>- bis C<sub>6</sub>)-Alkyl, O-Benzoyl stehen.

## 2. Epothilonderivat der Formel 2



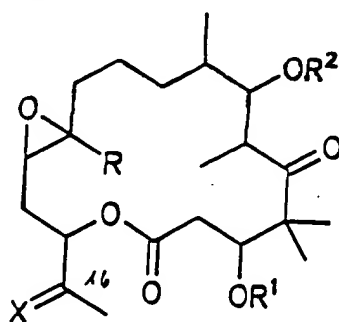
wobei R = H, C<sub>1</sub>- bis C<sub>4</sub>-Alkyl; R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> = H, C<sub>1</sub>- bis C<sub>8</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>8</sub>-Acyl-Benzoyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>4</sub>-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>8</sub>-Alkoxy-, C<sub>8</sub>-Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um gradkettige oder verzweigte Reste handelt.

### 3. Epothilonderivat der Formel 3



wobei  $R = H$ ,  $C_1$ - bis  $C_4$ -Alkyl;  $R^1, R^2 = H$ ,  $C_1$ - bis  $C_6$ -Alkyl,  $C_1$ - bis  $C_6$ -Acyl-Benzoyl,  $C_1$ - bis  $C_4$ -Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl,  $C_1$ - bis  $C_6$ -Alkoxy-,  $C_6$ -Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um gradkettige oder verzweigte Reste handelt, und  $X$  allgemein für  $-C(O)-$ ,  $-C(S)-$ ,  $-S(O)-$ ,  $-CR^1R^2-$  und  $-SiR_2-$  steht, wobei  $R, R^1$  und  $R^2$  die Bedeutung hat wie oben angegeben.

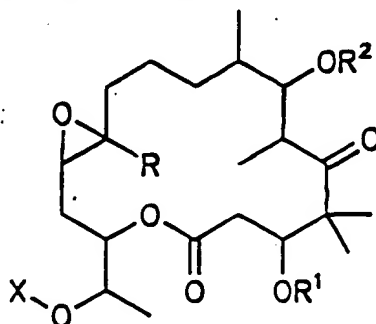
4. Epothilonderivat der Formel 4



4

wobei  $R = H$ ,  $C_1$ - bis  $C_4$ -Alkyl;  $R^1, R^2 = H$ ,  $C_1$ - bis  $C_6$ -Alkyl,  $C_1$ - bis  $C_6$ -Acyl-Benzoyl,  $C_1$ - bis  $C_4$ -Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl,  $C_1$ - bis  $C_6$ -Alkoxy-,  $C_6$ -Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um gradkettige oder verzweigte Reste handelt,  $X$  Sauerstoff,  $NOR^3$ ,  $N-NR^4R^5$ , und  $N-NHCONR^4R^5$  bedeutet, wobei die Reste  $R^3$  bis  $R^5$  die oben angegebene Bedeutung haben.

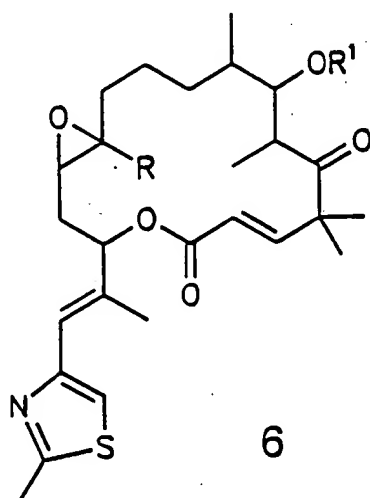
5. Epothilonderivat der Formel 5



5

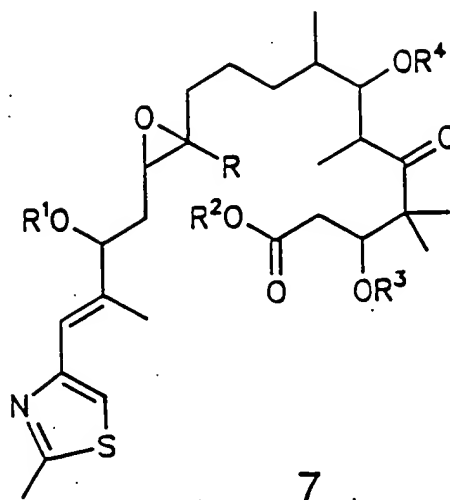
wobei R = H, C<sub>1</sub>- bis C<sub>4</sub>-Alkyl; R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> = H, C<sub>1</sub>- bis C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>6</sub>-Acyl-Benzoyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>4</sub>-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>6</sub>-Alkoxy-, C<sub>6</sub>-Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um gradkettige oder verzweigte Reste handelt, und X Wasserstoff, C<sub>1</sub>- bis C<sub>18</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>18</sub>-Acyl, Benzyl, Benzoyl und Cinnamoyl bedeutet.

# 6. Epothilonderivat der Formel 6



wobei R = H, C<sub>1</sub>- bis C<sub>4</sub>-Alkyl und R<sup>1</sup> = H, C<sub>1</sub>- bis C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>6</sub>-Acyl-Benzoyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>4</sub>-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>6</sub>-Alkoxy-, C<sub>6</sub>-Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl, und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um gradkettige oder verzweigte Reste handelt.

7. Epothilonderivat der Formel 7



wobei R = H, C<sub>1</sub>- bis C<sub>4</sub>-Alkyl und R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> = H, C<sub>1</sub>- bis C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>6</sub>-Acyl-Benzoyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>4</sub>-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>6</sub>-Alkoxy-, C<sub>6</sub>-Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um gradkettige oder verzweigte Reste handelt.

8. Mittel für den Pflanzenschutz in der Landwirtschaft und Forstwirtschaft und/oder im Gartenbau, bestehend aus einem oder mehreren der Verbindungen gemäß einem der vorangehenden Ansprüche oder einer oder mehreren dieser Verbindungen neben einem oder mehreren üblichen Träger(n) und/oder Verdünnungsmittel(n).

9. Therapeutisches Mittel, insbesondere zum Einsatz als Cytostatikum, bestehend aus einer oder mehreren der Verbindungen nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 7 oder ein r oder mehrerer der Verbindungen nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 7 neben ein m oder mehreren üblichen Träg r(n) und/oder Verdünnungsmitt l(n).



### **Zusammenfassung**

**Die vorliegende Erfindung betrifft Epothilonderivate und deren Verwendung.**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**